

令和 3 年 4 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08134

研究課題名(和文) 肺胞上皮細胞における転写因子LHX9の機能とCOPD病態における役割解明

研究課題名(英文) Increased LHX9 expression in alveolar epithelial type 2 cells of patients with chronic obstructive pulmonary disease

研究代表者

山田 充啓 (Yamada, Mitsuhiro)

東北大学・大学病院・講師

研究者番号：00396483

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、COPDにおけるLHX9の役割を解明することを目的とした。COPD患者の型細胞ではLHX9のmRNA発現が上昇していた。さらに多変量回帰分析にて、LHX9の発現量は対標準1秒量と統計学的に有意な相関を示すことが明らかになった。次にA549細胞を炎症性サイトカインや酸化ストレスで刺激したところinterferon- (IFN )がLHX9のmRNAおよび蛋白質の発現を増加させた。さらにRNA干渉法を用いて、LHX9がA549細胞の細胞死感受性を亢進させることを示した。本結果からCOPD病態では、IFN が型細胞のLHX9発現を増加させ細胞死感受性を亢進させる可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はLHX9による型細胞の機能制御がCOPD病態の形成に重要な役割を持っている可能性を示唆した。現在行われているCOPDに対する治療は、気管支拡張薬やテオフィリン製剤を用いた気流閉塞の解除が主体であり、気道・肺組織のリモデリング制御等、根本的な治療は開発されていない。本研究結果から、COPDの型細胞の脆弱性にはIFN-LHX9シグナル伝達経路が関与している可能性が示唆されたが、COPDにおいてこの経路を抑制することで、COPD肺組織において型細胞の幹細胞活性を維持できる可能性がある。このことは、現在世界中の脅威となっているCOVID-19肺炎の重症化阻止にも役立つ可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Although we previously reported that LHX9 mRNA expression was up-regulated in AT2 cells of COPD lung tissues, it is yet to be elucidated how LHX9 is associated with the vulnerability of AT2 cells in COPD. In this study, we revealed that LHX9 mRNA expression was increased in AT2 cells from COPD lung tissues, compared to non-COPD. The airflow obstruction was independently correlated with the increase in LHX9 expression. Among several pro-inflammatory cytokines, interferon- was a strong inducer for LHX9 expression in A549 cells. Lhx9 was involved in the increased susceptibility to serum starvation-induced cell death of A549 cells. Our data suggest that IFN- predominantly increases the LHX9 expression which enhances the susceptibility to cell death. Considering the independent association of the increased LHX9 expression in AT2 cells with airflow obstruction, the IFN-Lhx9 axis might contribute to the vulnerability of AT2 cells in the lungs of COPD.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：COPD

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

COPD は、タバコ煙等を吸入することで生じる肺の炎症性疾患であり、2020 年には世界の死亡の第 3 位になると予測されており、病態のさらなる解明とそれに基づく新規治療薬の開発が急務である。これまで COPD の網羅的遺伝子発現解析では主に肺組織全体から抽出した RNA が使用されてきた。しかし、肺は 30 種類以上の細胞から構成される複雑な臓器であるため、肺組織全体での解析では COPD 病態の解明に大きく寄与する結果は得られていない。

組織幹細胞は自己複製能と多分化能を有し、組織の恒常性維持や修復に重要である (Science 2014;344:1242281)。そのため組織幹細胞の機能制御因子を同定することは疾患の病態解明、新規治療法開発に有用であることが指摘されている (Nat Cell Biol 2016;18:349)。II 型肺胞上皮細胞 (AT2 細胞) は肺胞上皮の幹細胞として機能する (J Clin Invest 2013;123:3025)。これまでヒト肺組織から AT2 細胞を高純度で分離方法はなく、COPD を含めた難治性肺疾患におけるヒト AT2 細胞の機能解析は進んでいなかった。そこで、申請者はヒト肺組織から FACS を用いて AT2 細胞を分離する方法を開発した (図 1, Am J Respir Cell Mol Biol 2012;46:422)。さらに、本方法を用い、COPD 患者由来手術肺組織より AT2 細胞を分離し、non-COPD 対照者と遺伝子発現をマイクロアレイにて網羅的に解析した結果、最も発現が亢進していた遺伝子として LIM Homeobox 9 (LHX9) を同定した (BMJ Open 2012;2:e001553)。

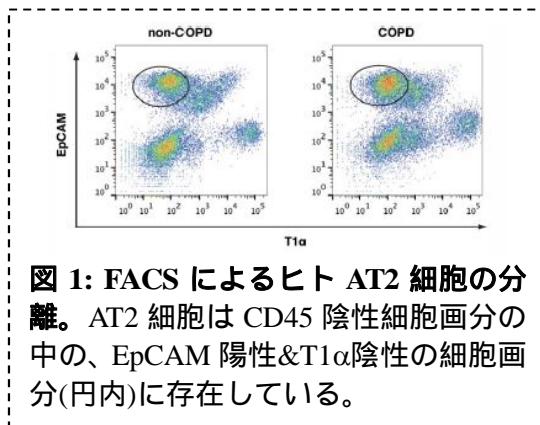


図 1: FACS によるヒト AT2 細胞の分離。AT2 細胞は CD45 陰性細胞画分の中の、EpCAM 陽性&T1α陰性の細胞画分(円内)に存在している。

LHX9 は LIM homeobox gene family に属する転写因子であり、一つのホメオドメイン と 2 つの LIM ドメインを所有している(図 2)。Lhx9 欠損マウスの研究などにより、LHX9 は性腺の発生に必須の転写因子であることが判明しているが (Nature 2000;403:909)、AT2 細胞も含め、成体肺での機能、病態時における発現変動および寄与については過去に報告されていない。よって、AT2 細胞における LHX9 の発現上昇と COPD 病態の関係も含め、LHX9 の機能・役割を明らかにすることは、COPD の新たな病態解明につながる、新規性の高い研究課題と考えられた。



図 2: LHX9 の 3 次元構造

### 2. 研究の目的

本研究は、AT2 細胞における LHX9 の機能を解明し、LHX9 の COPD 病態への関与を明らかにすることを目的とする。具体的には以下の点を目的とした。

- COPD 患者および非 COPD 患者から分離した II 型肺胞上皮細胞の遺伝子解析により、転写因子 LHX9 と COPD 患者の臨床データとの相関を明らかにする。
- 転写因子 LHX9 が II 型肺胞上皮細胞のどのような細胞機能を制御しているのか解析し、COPD にみられるような機能異常と関与するのか検討する。

### 3. 研究の方法

#### (1) ヒト II 型細胞の網羅的遺伝子発現解析

本研究では 2012 年当科で報告した COPD 患者および非 COPD 患者の II 型細胞を用いた網羅的遺伝子発現データ (GSE29133) を再解析した。患者背景、ヒト肺組織の保存および II 型細胞の分離方法については先行文献に記載された通りである。網羅的遺伝子発現データの解析には Subio platform ver.1.22 (Subio 社、日本) を用いた。

#### (2) ヒト II 型細胞分離と患者背景

本研究で用いたヒト肺組織は東北大学病院呼吸器外科および石巻赤十字病院呼吸器外科において原発性肺癌あるいは転移性肺腫瘍のために肺切除術を受けた COPD 患者 (n=11) および非 COPD 患者 (n=10) の手術標本から、腫瘍より十分に離れた肺組織を頂いた。COPD の診断および重症度の判定は日本呼吸器学会のガイドラインに従った。本研究は東北大学および石巻赤十字病院の倫理委員会により承認され、すべての患者からインフォームド・コンセントを得た。既報に従って、肺組織から単一細胞懸濁液を作成した。この単一細胞懸濁液から血球系細胞を autoMACS Separator (Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA) と抗 CD45 抗体を結合させたマイクロビーズ (Miltenyi Biotec) を用いて除去した。既報の方法を用いて単一細胞懸濁液から II 型細胞を分離した。細胞分離には FACS Aria II cell sorter (BD Biosciences) を用いた。死細胞および

ダブレットを除去し、Ⅱ型細胞を EpCAM<sup>high</sup>/T1 陰性の細胞集団として同定し、ソーティングした。

### (3) RNA 抽出と定量 PCR

total RNA 抽出には TRIzol (Thermo Fisher Scientific) を用いた。total RNA 1000 ng を QuantiTect Reverse Transcription Kit (QIAGEN、東京、日本) を用いて逆転写し、QuantiTect primer assay (QIAGEN) を用いて定量 PCR を行った。得られた Ct 値をもとに 2<sup>-Ct</sup> 法により相対的遺伝子発現量を定量した。

### (4) A549 細胞に対する炎症性サイトカイン負荷実験

A549 細胞に以下の試薬を添加した: human recombinant interferon alpha (IFN $\alpha$ ; R&D systems, Minneapolis, MN, USA; 最終濃度 100 U/mL) human recombinant interferon gamma (IFN $\gamma$ ; R&D systems; 最終濃度 100 ng/mL) human recombinant interleukin-6 (IL-6; R&D systems; 最終濃度 30 ng/mL) human recombinant interleukin-4 (IL-4; Pepro Tech, East Windsor, NJ, USA; 最終濃度 30 ng/mL) + human recombinant interleukin-13 (IL-13; Pepro Tech; 最終濃度 30 ng/mL) human recombinant tumor necrosis factor alpha (TNF $\alpha$ ; Sigma-Aldrich; 最終濃度 10 ng/mL)。コントロールにはサイトカインを加えていない培地のみを用いた。サイトカインを加えてから 6、24、48 時間後に total RNA を回収した。total RNA の回収には RLT buffer (RNeasy mini Kit, QIAGEN) を用いた。

IFN $\alpha$  を添加した際の LHX9 蛋白発現量の推移を検討した実験では、A549 細胞を 12 ウェル細胞培養用プレートに 2.0~4 $\times$ 10<sup>4</sup> cells/mL の濃度で播種し、24 時間後に IFN $\alpha$  を添加した。添加してから 24、48、72 時間後に whole cell lysate を回収した。whole cell lysate の回収には以下の試薬を混合した lysis buffer を用いた: RIPA buffer (10 $\times$  Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA; 希釈倍率 10:1) Protease Inhibitor Cocktail for mammalian cell and tissue (Sigma-Aldrich; 希釈倍率 100:1)。

IFN $\alpha$  添加後、96 時間まで培養を継続した実験では、A549 細胞を 12 ウェル細胞培養用プレートに 2.0~4 $\times$ 10<sup>4</sup> cells/mL の濃度で播種し、24 時間後に培地を 1%FBS/DMEM に交換した。交換から 24 時間後に IFN $\alpha$  を添加し、添加してから 72、96 時間後に lysis buffer を用いて whole cell lysate を回収した。

### (5) A549 細胞に対する過酸化水素負荷実験

A549 細胞を 12 ウェル細胞培養用プレートに 1.5~4 $\times$ 10<sup>4</sup> cells/mL の濃度で播種し、24 時間後に培地を 10%FBS/DMEM、あるいは 1%FBS/DMEM に交換した。さらに 24 時間培養した後、最終濃度が 10  $\mu$ M、100  $\mu$ M、1000  $\mu$ M となるように H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Wako、大阪、日本) を添加した。コントロールには H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の溶媒である H<sub>2</sub>O を用いた。H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を加えてから 6、24、48 時間後に total RNA を回収した。total RNA の回収には RLT buffer (RNeasy mini Kit, QIAGEN) を用いた。

### (6) siRNA トランスフェクション

Silencer Select siRNAs for LHX9 (siLHX9; Thermo Fisher Scientific) を用いてノックダウン実験を行った。陰性コントロール (siNTC; non-targeting control siRNA) として Silencer Select Negative Control No. 1 siRNA (Thermo Fisher Scientific) を使用した。siRNA のトランスフェクションには Lipofectamin RNAiMAX Transfection Reagent (Lipofectamin; Thermo Fisher Scientific) を用いた。

12 ウェル細胞培養用プレートに 1.0~1.5 $\times$ 10<sup>4</sup> cells/mL の濃度で A549 細胞を播種し、24 時間培養した後、培地をペニシリンとストレプトマイシンを添加していない 1%FBS/DMEM に交換した。15 mL のポリスチレン製コニカルチューブ (Corning, Corning, NY, USA) の中で Opti-MEM I Reduced Serum Medium (Thermo Fisher Scientific) Lipofectamin、siRNA (siLHX9 または siNTC) を混合し、5 分間室温で静置した。培地の交換から 24 時間後に、ウェルに Lipofectamin と siRNA の混合液を添加した。

ノックダウン効率を確認した実験では、Lipofectamin と siRNA の混合液を加えてから 72 時間後に lysis buffer を用いて whole cell lysate を回収した。細胞周期解析では、Lipofectamin と siRNA の混合液を加えてから 72 時間後に Trypsin-EDTA を用いて細胞を剥離した。

## 4. 研究成果

### (1) COPD 病態におけるⅡ型細胞の LHX9 遺伝子発現量の検討

以前、COPD 患者と非 COPD 患者間のⅡ型細胞における網羅的遺伝子発現パターンをマイクロアレイ法により明らかにし、LHX9 遺伝子発現が COPD 患者のⅡ型細胞で亢進していることを報告した。本研究はこのマイクロアレイ解析の結果の検証から開始した。まず始めに、非 COPD 患者 (n=10) および COPD 患者 (n=11) の切除肺組織からⅡ型細胞を分離し、定量 RT-PCR 法により LHX9 遺伝子発現量を評価した。患者背景を表 1 に示す。その結果 COPD 患者のⅡ型細胞では、非 COPD 患者のⅡ型細胞と比較して LHX9 遺伝子発現量が中央値で 9.8 倍増加していることを確認し

た ( $P=0.0127$ )。

次に、Ⅱ型細胞における LHX9 遺伝子発現量と患者の臨床的パラメーター (年齢、喫煙歴、対標準 1 秒量 (%FEV1)) との相関を検討した。LHX9 遺伝子発現量は、年齢との間に有意な相関を認めなかったが、喫煙歴と有意な正の相関を示し (Pearson  $r=0.4571$ 、 $P=0.0372$ )、%FEV1 と有意な負の相関を示した (Pearson  $r=-0.6998$ 、 $P=0.0004$ )。交絡因子を除外するために多変量回帰分析を行ったところ、%FEV1 低下が LHX9 遺伝子発現増加と独立して関連することが分かった。以上から、COPD 患者のⅡ型細胞では、LHX9 遺伝子発現が亢進しており、この発現亢進は気流制限の程度と独立して相関を示すことが分かった。

### (2) A549 細胞を用いた LHX9 発現誘導因子の検討

これまで COPD 患者の肺組織を用いた検討から、Ⅱ型細胞の LHX9 遺伝子発現は気流制限の程度と独立して相関を示すことを明らかにしてきた。この結果から、COPD 病態を形成する組織微小環境がⅡ型細胞の LHX9 発現を誘導しているという仮説を考えた。この仮説を検証するため、Ⅱ型細胞に表現型が類似している肺腺癌細胞株 (A54974) を、COPD 病態との関連が知られている炎症性サイトカイン、酸化ストレスで刺激し、LHX9 発現の変化を評価した。

炎症性サイトカインとして、(i) IFN、(ii) IFN、(iii) IL-6、(iv) TNF、(v) IL-4 と IL-13 の混合 (以下、IL-4+IL-13 と記載) の 5 種類を検討した。これらのサイトカインは COPD 病態との関連が報告されている。陰性コントロールは培地のみとし、各サイトカインで 6、24、48 時間刺激後、A549 細胞から total RNA を抽出し定量 RT-PCR を行った。

定量 RT-PCR の結果より、これらのサイトカインのうち IFN が LHX9 遺伝子発現を強く誘導することが分かった。培地中の FBS 濃度を 1%とした場合、IFN による刺激後、LHX9 遺伝子発現量はコントロールに比較して 6 時間で 4.3 倍 ( $P=0.0002$ ) に増加した。24 時間では 3.9 倍 ( $P=0.0038$ ) と 6 時間とほぼ同様であったが、48 時間後には 8.5 倍 ( $P=0.0159$ ) とさらに増加し、早期 (~6 時間) と後期 (24-48 時間) の 2 相性変化を示した。IFN と IL-6 は 6 時間後にそれぞれ 4.7 倍 ( $P=0.0039$ )、2.5 倍 ( $P=0.0276$ ) 増加させたが、24 時間以降、2-3 倍で推移した。TNF は、コントロールに比較して 0.47 倍 (6 時間、 $P=0.0747$ )、0.93 倍 (24 時間、 $P=0.991$ )、0.74 倍 (48 時間、 $P=0.007$ ) に低下した。IL-4+IL-13 添加による LHX9 発現は、経時的に減少し、48 時間後には 0.35 倍に低下した。これらのサイトカインによる LHX9 発現変化のパターンは、FBS 濃度が 10%のときもほぼ同様の傾向を示した。

検討した炎症性サイトカインの中で、IFN が A549 細胞における LHX9 遺伝子発現を最も強く誘導したことから、IFN による LHX9 蛋白発現量をウェスタンブロット法にて検証した。IFN 添加後 24 時間、48 時間、72 時間における LHX9 蛋白発現量は各時間のコントロールと比較して 1.3 倍、1.5 倍、1.8 倍に増加しており、この結果は RT-PCR の結果と合致していた。IFN が 72 時間以上に渡り LHX9 蛋白発現量を維持するか検討するため、96 時間まで培養を継続した。その結果、IFN は 72~96 時間において LHX9 蛋白発現量を維持できることが分かった。以上から、IFN は、LHX9 の mRNA/蛋白発現を強く誘導することを明らかにした。

酸化ストレス環境は肺組織に対して細胞老化、細胞死の誘導、気道炎症の惹起、アンチプロテアーゼの不活化、粘液産生といった有害な影響をもたらす、COPD 病態形成に重要な役割を担っていると考えられている。

酸化ストレスによって LHX9 の発現が変化するのかが検討するために A549 細胞を 10  $\mu\text{M}$ 、100  $\mu\text{M}$ 、1,000  $\mu\text{M}$  の 3 つの異なった濃度の H2O2 存在下に培養した。H2O2 (1,000  $\mu\text{M}$ ) では、A549 細胞が 24 時間の時点で細胞死を生じた。FBS 濃度に関わらず、H2O2 により A549 細胞の LHX9 遺伝子発現に変化を認めなかった。以上から、少なくとも H2O2 による酸化ストレス刺激は LHX9 遺伝子発現を変化させなかった。

### (3) A549 細胞を用いた LHX9 の機能解析

肺上皮細胞の組織幹細胞であるⅡ型細胞は、定常状態 (あるいは非傷害時) では細胞周期の休止期 (G0) に入っているが、傷害時、増殖因子やアポトーシス細胞を認識することにより細胞周期に入り細胞増殖が生じる。一方、組織幹細胞はアポトーシス抵抗性という側面も併せ持つ。これは組織障害時の細胞プールとして重要な役割を果たしている。組織幹細胞は細胞周期制御、細胞死感受性調節という根本的な機能を緻密に制御することにより、組織障害の修復などに関与している。COPD におけるⅡ型細胞の細胞周期・アポトーシス感受性については、種々の報告がなされている。COPD のⅡ型細胞では、増殖能が亢進していることが知られている。一方で、Ⅱ型細胞のアポトーシスは亢進していることが分かっている。このような COPD におけるⅡ型細胞の細胞周期、アポトーシス感受性が COPD の微小環境においてどのように制御されているかは明らかにされていない。

そこで A549 細胞の細胞周期およびアポトーシス感受性における LHX9 の役割を明らかにするために、RNA 干渉法を利用し機能喪失実験を行った。siRNA にて A549 細胞の LHX9 をノックダウンした。その結果、LHX9 蛋白発現量は 76%減少することを確認した。

まず始めに細胞周期解析を行った。生細胞に対する各細胞周期 (G0 期、G1 期、S 期、G2/M 期) の細胞の割合を、LHX9 をノックダウンした細胞 (siLHX9) と陰性コントロール (siNTC) とで比較検討したが、LHX9 ノックダウンにより各細胞周期の細胞割合に変化を認めなかった。

次に細胞死感受性を検討するため、A549 細胞を無血清培地で 96 時間培養したときの生細胞/

死細胞比を siLHX9 と siNTC 間で比較した。LHX9 をノックダウンすると、コントロールと比較して生細胞/死細胞比が増加した (siNTC  $0.29 \pm 0.09$  vs siLHX9  $0.94 \pm 0.07$ ,  $P=0.0466$ )。以上の検討から、A549 細胞において、LHX9 は細胞周期には影響を与えないが、serum-starvation による細胞死に関して細胞死感受性を亢進している可能性が示唆された。

本研究成果により、COPD 患者の 型細胞において転写因子 LHX9 は INF によって誘導され、型細胞の細胞死感受性を亢進させることで COPD 病態の形成に寄与している可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Yamada Mitsuhiro	4. 巻 251
2. 論文標題 The Roles of MicroRNAs and Extracellular Vesicles in the Pathogeneses of Idiopathic Pulmonary Fibrosis and Acute Respiratory Distress Syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Tohoku Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 313 ~ 326
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1620/tjem.251.313	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Koarai Akira, Sugiura Hisatoshi, Yamada Mitsuhiro, Ichikawa Tomohiro, Fujino Naoya, Kawayama Tomotaka, Ichinose Masakazu	4. 巻 20
2. 論文標題 Treatment with LABA versus LAMA for stable COPD: a systematic review and meta-analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Pulmonary Medicine	6. 最初と最後の頁 111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12890-020-1152-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Saito Tsutomu, Ichikawa Tomohiro, Numakura Tadahisa, Yamada Mitsuhiro, Koarai Akira, Fujino Naoya, Murakami Koji, Yamanaka Shun, Sasaki Yusaku, Kyogoku Yorihiro, Itakura Koji, Sano Hirohito, Takita Katsuya, Tanaka Rie, Tamada Tsutomu, Ichinose Masakazu, Sugiura Hisatoshi	4. 巻 22
2. 論文標題 PGC-1 regulates airway epithelial barrier dysfunction induced by house dust mite	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Respiratory Research	6. 最初と最後の頁 63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12931-021-01663-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Mitsuhiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Extracellular vesicles: Their emerging roles in the pathogenesis of respiratory diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Respiratory Investigation	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.resinv.2021.02.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanno Atsushi, Fujino Naoya, Yamada Mitsuhiro, Sugiura Hisatoshi, Hirano Taizou, Tanaka Rie, Sano Hirohito, Suzuki Satoshi, Okada Yoshinori, Ichinose Masakazu	4. 巻 21
2. 論文標題 Decreased expression of a phagocytic receptor Siglec-1 on alveolar macrophages in chronic obstructive pulmonary disease	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Respiratory Research	6. 最初と最後の頁 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12931-020-1297-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kyogoku Yorihiro, Sugiura Hisatoshi, Ichikawa Tomohiro, Numakura Tadahisa, Koarai Akira, Yamada Mitsuhiro, Fujino Naoya, Tojo Yutaka, Onodera Katsuhiko, Tanaka Rie, Sato Kei, Sano Hirohito, Yamanaka Shun, Itakura Koji, Mitsune Ayumi, Tamada Tsutomu, Akaike Takaaki, Ichinose Masakazu	4. 巻 144
2. 論文標題 Nitrosative stress in patients with asthma?chronic obstructive pulmonary disease overlap	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 972 ~ 983
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2019.04.023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takei Yusuke, Yamada Mitsuhiro, Saito Koji, Kameyama Yoshinobu, Sugiura Hisatoshi, Makiguchi Tomonori, Fujino Naoya, Koarai Akira, Toyama Hiroaki, Saito Kazutomo, Ejima Yutaka, Kawazoe Yu, Kudo Daisuke, Kushimoto Shigeki, Yamauchi Masanori, Ichinose Masakazu	4. 巻 54
2. 論文標題 Increase in circulating ACE-positive endothelial microparticles during acute lung injury	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Respiratory Journal	6. 最初と最後の頁 1801188
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1183/13993003.01188-2018	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Fujino Naoya, Brand Oliver J., Morgan David J., Fujimori Toshifumi, Grabiec Aleksander M., Jagger Christopher P., Maciewicz Rose A., Yamada Mitsuhiro, Itakura Koji, Sugiura Hisatoshi, Ichinose Masakazu, Hussell Tracy	4. 巻 216
2. 論文標題 Sensing of apoptotic cells through Axl causes lung basal cell proliferation in inflammatory diseases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 2184 ~ 2201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20171978	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsukita Yoko, Fujino Naoya, Miyauchi Eisaku, Saito Ryoko, Fujishima Fumiyoshi, Itakura Koji, Kyogoku Yoriyuki, Okutomo Koji, Yamada Mitsuhiro, Okazaki Tatsuma, Sugiura Hisatoshi, Inoue Akira, Okada Yoshinori, Ichinose Masakazu	4. 巻 18
2. 論文標題 Axl kinase drives immune checkpoint and chemokine signalling pathways in lung adenocarcinomas	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Cancer	6. 最初と最後の頁 24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12943-019-0953-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki Takaya, Ota Chiharu, Fujino Naoya, Tando Yukiko, Suzuki Satoshi, Yamada Mitsuhiro, Kondo Takashi, Okada Yoshinori, Kubo Hiroshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Improving the viability of tissue resident stem cells using an organ preservation solution	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 2093 ~ 2104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.12748	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Mitsuhiro, Ichinose Masakazu	4. 巻 40
2. 論文標題 The cholinergic anti-inflammatory pathway: an innovative treatment strategy for respiratory diseases and their comorbidities	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Current Opinion in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 18 ~ 25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.coph.2017.12.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Mitsuhiro, Ichinose Masakazu	4. 巻 9
2. 論文標題 The Cholinergic Pathways in Inflammation: A Potential Pharmacotherapeutic Target for COPD	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 1426
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2018.01426	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -



〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山田充啓
2. 発表標題 異種細胞間コミュニケーションに着目した難治性呼吸器疾患の病態解明とバイオマーカー探索
3. 学会等名 第60回日本呼吸器学会学術講演会 令和元年度 熊谷賞受賞講演（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田 充啓
2. 発表標題 肺組織修復のメカニズム 細胞治療の可能性
3. 学会等名 第59回日本呼吸器学会学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------